

# (19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)

(51) Int. Cl. 7  
A61K 7/42

(11) 공개번호 특2001-0106527  
(43) 공개일자 2001년12월07일

(21) 출원번호 10-2001-0072279  
(22) 출원일자 2001년11월20일

(71) 출원인 생백원  
서울 동작구 노량진1동 52-49

(72) 발명자 오미경  
경기도용인시수지읍죽전리832-1백산아파트206-603  
이원경  
서울특별시강남구삼성동50번지영동차관아파트21-514

(74) 대리인 김종율  
양경석

식약청구: 없음

## (54) 생약식물의 추출물을 유효성분으로 하는 미백화장료제조방법

요약

본 발명은 한약제로 사용되는 조각(皂角), 승마(升麻), 백급(白芨), 과루근(瓜瓞根)을 일정 비율로 혼합한 혼합물에 대하여 풀(중류수), 에탄올수용액, 메탄올수용액, 1,3-부틸렌글리콜수용액, 프로필렌글리콜수용액, 글리세린수용액 등의 용매를 이용하여 추출한 추출물을 유효성분으로 하는 미백화장료 제조방법에 관한 것으로, 중량비로 조각 20-55%, 승마 20-35%, 백급 10-30%, 과루근 10-30%를 혼합하는 단계; 전기 단계의 생약식물의 혼합물에 물, 에탄올수용액, 메탄올수용액, 1,3-부틸렌글리콜수용액, 프로필렌글리콜수용액, 글리세린수용액 중 어느 하나 또는 2가지이상용 혼합하여된 용매를 투입하여 생약식물들의 주요성분을 용해시키는 단계; 및 전기 단계에서 용매에 의하여 용해된 생약 식물에 대하여 그 찌꺼기를 제거한 나머지를 여과하고 여과된 추출액으로부터 용매를 증발시켜 추출물을 추출하는 단계를 포함하는 것이다.

백단어

미백화장료, 생약식물의 추출물, 조각, 승마, 백급, 과루근

명세서

명세서의 기재한 사항

## 발명의 목적

## 발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

본 발명은 한약재로 사용되는 생약식물의 추출물을 유효성분으로 하는 미백화장료 제조방법에 관한 것으로서, 보다 상세하게는, 한약재로 사용되는 조각(角角), 승마(升麻), 백급(白芨), 파루근(瓜蒌根)을 일정 비율로 혼합한 혼합물에 물(중류수), 에탄올수용액, 메탄올수용액, 1,3-부틸렌글리콜수용액, 프로필렌글리콜수용액, 글리세린수용액 등의 용매를 적용하여 추출한 추출물을 유효성분으로 하는 미백화장료 제조방법에 관한 것이다.

사람의 피부색은 멜라닌 색소인 헤모글로빈, 담즙색소인 빌리루빈 및 피부색소인 멜라닌이라는 색소에 의해 결정되나, 멜라닌의 영향이 가장 크다. 멜라닌은 피부세포 중 표피 하층부에 있는 멜라닌형성세포(melanocyte) 내에서 합성되는데, 멜라닌이 합성되는 과정을 보면, 멜라닌형성세포(melanocyte) 내의 티로신(Tyrosine)이라는 기질에 티로시나아제(Tyrosinase)라는 효소가 작용하여 도파퀴논(dopaquinone)이 생성되고 이 도파퀴논이 산화반응 및 효소반응을 거쳐 멜라닌으로 된다. 이러한 멜라닌 생성과정에 중요한 인자로 작용하는 효소 티로시나아제는 자외선에 의해 더욱 활성화되기 때문에, 햇빛에 과다하게 노출되면 멜라닌 생성이 많아지고 이것이 피부 내에 이상 침착하여 피부가 검게 변화하게 되고 기미나 검버섯 등이 생기게 된다.

따라서, 외용제로 사용되는 피부 미백제의 제조를 위하여 티로시나아제의 활성을 억제시키거나, 멜라닌 생성과정 중의 일부반응을 억제하는 효과가 있는 물질, 특히 상기 티로시나아제의 활성을 억제하는 물질을 배합하여 사용할 수 있으며, 이러한 물질의 대표적인 것으로는 이소클로린, 하이드로퀴논, 알부틴, 코직산 등을 들 수 있다. 그러나, 이러한 인공화합물질은 안전성이 보장되기 어려우 화장료로 사용하기에 적합하지 않다.

이러한 관계로, 근자에는 생약식물의 주요 성분을 추출하여 그 추출액을 미백화장료로 사용하는 방법에 대하여 많은 연구가 행해져 왔으며, 상피피의 성분을 이용한 미백화장료(일본공개특허 소 55-44375, 소 64-26507, 소 64-8300, 9-평 1-256587), 감초의 성분을 이용한 미백화장료(일본공개특허 소 60-214721, 소63-23809, 소 64-63506, 평 1-149706), 작약의 성분을 이용한 미백화장료(일본공개특허 소 61-246109), 계피의 성분을 이용한 미백화장료(일본공개특허 소 63-30403)를 비롯하여, 고삼, 오매, 만령자, 산수유, 하교초 등 다수의 생약 성분을 이용한 미백화장료들이 알려진 바 있다.

그러나, 이러한 종래의 생약식물의 성분을 이용한 미백화장료들은 모두 한 가지 약재의 추출물을 이용하는 것이기 때문에 그 효능이 우수하지 못하여 미백효과가 떨어지고, 또한 당해 약재가 가지는 장점뿐만 아니라 단점(또는 부작용을 일으키는 요소)도 함께 발현되는 관계로 다수의 부작용이 초래되거나, 또는 장기간 보관함에 있어서 변색 변취 등의 문제점이 있다.

## 발명이 이루고자 하는 기술적 과제

본 발명은 위와 같은 종래 문제점을 해소하기 위하여 창안된 것으로, 본 발명은 몇 가지 종류의 한약재를 일정비율로 혼합하고 그 혼합물의 성분을 추출하여 그 추출물을 화장장품의 미백화장료로 사용함으로써, 피부 미백효과가 향상된 화장품의 제공을 목적으로 한다.

본 발명의 다른 목적은 혼합되는 한약제 상호간의 보완작용을 통하여 단일 생약식물의 성분으로부터 초래될 수 있는 부작용을 방지한 미백화장료를 제공하는 것이다.

## 발명의 구성 및 작용

본 발명의 미백화장료 제조방법은 조각, 승마, 백금, 파루근을 일정비율로 혼합하고, 그 혼합물에 물, 에탄올수용액, 메탄올수용액, 1,3-부틸렌글리콜수용액, 프로필렌글리콜수용액, 글리세린수용액 중 어느 하나 또는 2가지 이상을 혼합하여 된 용액을 투입하여 일정온도로 가열함으로써 생약식물의 성분이 용매에 용해되도록 한 후, 그 용해된 성분을 여과지 등으로 여과 및 세균하여 상기 생약식물들의 주요 성분을 추출하여, 그 추출물을 미백화장료의 주요성분으로 사용하는 것이다.

본 발명에 사용되는 생약식물 중 조각(牛角, *Gleditsia japonica* Miq. 또는 *Gleditsia horrida* Mak.)은 '주엽나무'의 익은 열매를 말린 것을 말한다. 주엽나무는 한경북도를 제외한 우리나라 전역에 분포되어 있으며, 주로 표고 100~900m인 산기슭과 산골짜기의 개울가에서 자란다. '주엽나무'는 줄기와 가지에 예리한 가시가 있고 노박인수축 새로 방향으로 흩어 되어 있으며, 성숙한 열매의 내피 속에 점 같은 것이 있어서 먹으면 달글한데 이것을 주엽 또는 조엽이라고 한다. '조각'은 덩고 편맛을 가지며 따뜻한 성질을 갖는 것으로, 폐경, 대장경, 삼초경에 작용하여 담을 삭이고 기침을 멈추고 풍을 없애는 효력이 있으며, 또 열매의 껍질에는 사포닌이 함유되어 있어 비누 대용으로 쓰이기도 한다. 최근 약리실험에 의하면, '조각'을 단인 약은 가래삭임작용, 억균작용, 용혈작용이 있는 것으로 보고된바 있다.

승마(升麻)는 미나리아재비과(*Ranunculaceae*)에 속하는 식물로 끼밀가리(*Cimicifga heracleifolia* Komar.)와 눈빛승마(*C. davurica* Maxim.) 황세승마(*C. foetida* L.) 쫓대승마(*C. simplex* Wormsk.)가 기원식물이며 국내 중부이북 산골짜기에서 주로 자란다. '승마'는 위 식물의 뿌리줄기를 말린 것으로, 맛은 달고 쓰며 성질은 약간 차다. 피부의 열을 가라앉히고, 목구멍의 통증을 없애는 용도로 많이 사용되며, 특히 억균작용이 있기 때문에 염증의 치료를 위한 외용약으로 사용되기도 한다.

백금(白堊, *Bletilla striata* Reichb.)은 난초과(*Orchidaceae*) 식물인 '대왕풀'의 덩이줄기를 말린 것을 말한다. 맛은 쓰고 단며 성질은 서늘하며, 폐경에 작용하여, 폐를 보하고, 출혈을 멈추며, 부은 것을 내리고, 종창을 치유하고, 새살이 잘 돌아나게 한다. 지혈작용 및 억균작용이 있기 때문에 가루를 내어 상처에 바르는 등 외용약으로 사용되기도 한다.

파루근(瓜蒌根)은 박과에 속하는 덩굴성 식물인 '하늘타리'의 뿌리를 말하며, 천화분 또는 팔루근이라고도 부르고, 국내 중부이남에 널리 분포되어 산과 들과, 밭에서 자란다. 성질이 차고 맛이 쓰며, 폐경, 위경, 대장경에 작용한다. 소갈과 신열변변 및 강위의 고열을 없애주고 배농하고 종독과 유옹 및 배저와 광결을 치료하고 율결을 통하게 하며 타어혈을 낫게 하는 용도로 많이 사용된다. 약리실험에 의하면, 적리근을 비롯한 병진성 미생물에 대한 억균작용이 있으며, 부스럼, 피부 등에 치료효과가 있는 것으로 보고된바 있다.

상기 한약재들인 조각, 승마, 백금, 파루근 각각을 개별적으로 보면 그 성질이나 작용이 특별히 피부 미백의 효과를 가져오는 것이라 할 수 없으나, 본 발명자가 그간 수많은 실험을 한 결과, 이들 한약재를 일정 비율로 혼합하여 그 성분을 추출하는 경우에는 위 한약재 성분들의 상호작용으로 피부 미백의 효과를 가져올 뿐만 아니라, 종래 알려진 단일 생약식물의 추출물과 비교하여 그 효과가 현저히 우수하고 부작용도 없는 것임을 확인할 수 있었다.

본 발명에 있어서, 위 한약재들의 혼합비율은 중량비로 조각 20~55%, 승마 20~35%, 백금 10~30%, 파루근 10~30%이다. 이때 사용되는 한약재들은 모두 실온에서 중량변화가 없을 때까지 충분히 건조된 것을 사용하여 한다. 위 한약재들을 혼합함에 있어서, 혼합비율은 그 추출물이 사용되는 화장료의 용도에 따라 적절히 조정될 수 있겠으나, 일반적으로는 위 한약재들의 혼합비율을 동등하게 하는 것이 가장 무난하다.

조각은 그 성질이 따뜻하고 혈을 잘 돌게 하는 것으로 타 약제와 혼합되는 경우 효과상승작용을 하기 때문에 그 사용량이 전체의 55%에 이를 때까지 사용해도 무방하다. 그러나, 55%를 넘게되면 다른 한약제들의 사용량이 줄어들게 되는 문제점이 있으며, 20%이하로 사용하는 경우에는 효과상승작용이 저하되는 문제점이 있다.

승마는 해독작용 및 진정작용의 효과가 있는 약제로서, 다른 약제들로부터 발생될 수 있는 독성이나 부작용 등을 해소하는 역할을 하는 것으로 그 사용량은 최소한 전체의 20%가 되어야 하나, 35%를 초과할 필요는 없다.

백급과 파루근은 폐경에 작용하며 지혈작용, 역균작용 및 세포생성을 보조하는 작용을 하는 것으로, 조각 및 승마와 혼합되어 피부보호를 강화하는 역할을 한다. 따라서, 백급과 파루근은 각각 최소한 전체의 10%이상이 되도록 하는 것이 바람직하다. 그러나, 이들 한약제는 모두 그 성질이 찬 것이기 때문에 각각 전체의 30%를 넘지 않도록 하여야 하며, 바람직하게는 이들을 합한 것이 전체의 50%를 초과하지 않도록 하여야 한다.

이들 한약제의 성분을 추출하기 위한 용매로는 물, 에탄올수용액, 메탄올수용액, 1,3-부틸렌글리콜수용액, 프로필렌글리콜수용액, 글리세린수용액 중 어느 하나 또는 2가지이상을 혼합하여 사용할 수 있는데, 위 한약제의 혼합물에 투입되는 용매의 양은 용매의 종류에 따라 달라질 수 있다. 즉, 물, 에탄올수용액 또는 메탄올수용액을 용매로 사용하는 경우에는 중량비로 한약제 혼합물과 동일한 정도의 용매를 투입하는 것이 바람직하고, 1,3-부틸렌글리콜수용액, 프로필렌글리콜수용액 또는 글리세린수용액을 용매로 사용하는 경우에는 중량비로 한약제 혼합물의 약 3-4배에 해당하는 양의 용매를 투입하는 것이 바람직하다.

한약제 혼합물에 용매를 투입하는 것만으로도 한약제의 성분이 추출될 수 있으나, 한약제들에 함유되어 있는 유효성분이 보다 짧은 시간에 충분히 추출될 수 있도록 하기 위해서는 일정온도로 중탕하는 것이 좋으며, 중탕의 조건은 50-70℃의 온도로 40-60시간 가열하는 것이 바람직하다.

가열이 끝나면, 중탕된 한약제 혼합물과 용매를 500메쉬 이하의 여과지 등을 이용하여 여과시켜 찌꺼기를 제거하는 한편, 여과지를 통과한 추출액으로부터 용매를 증발시키면, 한약제 혼합물의 여기스에 해당하는 추출물을 얻게 된다. 본 발명에서는 중탕으로 가열하기 때문에 한약제에 부착 또는 기생하는 병원균이 완전히 살균되지 않는다. 따라서, 여과단계에서 재균(除菌)과정을 거치는 것이 바람직하나, 살균제를 투입하는 등의 화학적 살균방법은 추후 그 살균제를 완전히 제거하지 않으면 피부에 나쁜 영향을 줄 수 있기 때문에 바람직하지 않다. 따라서, 재균할 수 있는 미세한 필터(0.40μm 이하)를 이용하여 물리적인 방법으로 병원균을 제거하는 것이 바람직하다.

이와 같은 과정으로 추출물이 추출되면, 그 추출물을 미백화장료로 하여, 다양한 화장품 재료와 혼합하여 화장품을 제조할 수 있다.

이하 본 발명을 실시예에 의해 설명한다.

#### [실시예 1]

본 실시예에서는 조각, 승마, 백급, 파루근의 혼합물에 용매를 달리 적용하여 주요성분을 추출하였는바, 사용된 한약제의 혼합비율은 조각, 승마, 백급, 파루근을 각각 동일한 양으로 하였고, 용매로는 물, 에탄올30%수용액, 1,3-부틸렌글리콜80%수용액 및 프로필렌글리콜40%수용액을 각각 사용하였다. 사용된 한약제들은 모두 실온에서 중탕의 변화가 없음을 때까지 건조된 것으로, 이들을 분쇄기로 분쇄하여 분말화한 후, 각 한약제 분말을 동일한 양으로 측량하여 혼합하고, 그 혼합물을 4 등분하였다.

4등분된 위 혼합물 중 하나에 대하여, 한약재 혼합물과 동일한 중량의 물을 투입하여 약 60℃에서 약 48시간 증탕한 후, 찌꺼기를 제거한 추출액을 500메쉬의 여과지를 사용하여 일차 여과시키고, 그 여과된 추출액을 다시 0.4 $\mu$ m 여과지로 재균여과하여 추출물을 추출하였다.

그리고, 위 4등분된 한약재 혼합물 중 다른 하나에 대하여, 한약재 혼합물과 동일한 중량의 에탄올30%수용액을 투입하여 실온에서 15일간 방치한 후, 찌꺼기를 제거한 추출액을 500메쉬의 여과지를 사용하여 일차 여과시키고, 그 여과된 추출액을 다시 0.4 $\mu$ m 여과지로 재균여과하여 추출물을 추출하였다.

그리고, 위 4등분된 한약재 혼합물 중 다른 하나에 대하여, 한약재 혼합물 중량의 4배에 해당하는 양의 1,3-부탄디올 80%수용액을 투입하여 약 60℃에서 약 48시간 증탕한 후, 찌꺼기를 제거한 추출액을 500메쉬의 여과지를 사용하여 일차 여과시키고, 그 여과된 추출액을 다시 0.4 $\mu$ m 여과지로 재균여과하여 추출물을 추출하였다.

또한, 위 4등분된 한약재 혼합물 중 나머지 하나에 대하여, 한약재 혼합물 중량의 4배에 해당하는 양의 프로필렌글리콜 40%수용액을 투입하여 약 60℃에서 약 48시간 증탕한 후, 찌꺼기를 제거한 추출액을 500메쉬의 여과지를 사용하여 일차 여과시키고, 그 여과된 추출액을 다시 0.4 $\mu$ m 여과지로 재균여과하여 추출물을 추출하였다.

이와 같이 용매를 달리하여 추출된 추출물을 비교하였는바, 성분은 동일하였고, 다만, 용매를 달리함에 따라 추출된 양에 약간의 차이가 있었으나 특별히 문제된 정도는 아니라는 점을 확인할 수 있었다. 다만, 효능성 등을 고려할 때 에탄올30%수용액을 용매로 사용하는 것이 보다 편리하였다.

본 실시예에서 추출된 추출물은 (특히, 에탄올30%수용액을 용매로 사용한 추출물) 본 발명의 추출물의 미백효과를 실험하기 위한 다음의 실시예들에서 시료로 사용되었다.

#### [실시예 2]

본 실시예에서는 실시예1에서 추출된 추출물의 미백효과를 측정하기 위하여, 이 추출물이 멜라닌 생성에 중요한자로 작용하는 티로시나제의 활동을 억제하는 역할을 하는지를 알아보기로 하고, 구체적으로는 실시예1의 추출물을, 종래 미백 화장품으로 사용되던 상백피추출물, 코직산, 알부틴, 하이드로퀴논, 파라-메톡시페놀과 비교하여, 티로시나제 활동 억제 효과를 측정하였다.

상기 티로시나제에 대한 저해활성은 시료 15 $\mu$ 를 마이크로플레이트(96웰)에 넣고, 0.1M 인산완충액(pH6.86) 150 $\mu$ l, 1.5mM 펄-티로신용액 25 $\mu$ 를 넣은 후, 2,380유니트/ml 머쉬를 티로시나제(0.05M 인산완충액, pH6.86) 7 $\mu$ 를 첨가하여 30℃에서 10분간 반응시킨 후 마이크로플레이트를 사용하여 490nm에서 측정하였다. 티로시나제에 대한 저해율(%)은 하기 계산식에 의하여 계산하였으며, IC<sub>50</sub> 값은 효소활성 저해율 50%에 달하는 저해물질의 농도로 결정하였다. 이와 같이 하여 측정된 결과를 하기 표 1에 나타내었다.

#### (계산식)

$$\text{저해율}(\%) = \{[(D - C) - (B - A)] / (D - C)\} \times 100$$

(상기 계산식에 있어서, A는 저해제를 넣은 것의 반응 전 흡광도, B는 저해제를 넣은 것의 반응 후 흡광도, C는 저해제를 넣지 않은 것의 반응 전 흡광도 그리고, D는 저해제를 넣지 않은 것의 반응 후 흡광도를 의미한다)

본 실시예에서 티로시나제 활성 억제작용시험결과, 실시예1의 추출물의 IC<sub>50</sub> 값(티로시나제 활성을 50% 저해하는 농도)은 0.04%이므로 나타났으며, 이는 기존에 미백효과가 우수한 것으로 알려지고 있는 상백피 추출물보다도 훨씬 우수한 효과를 가지는 것이다. 다른 물질과 비교하면, 수치상으로 코직산이나 알부틴에 비해 저해활성이 약한 것으로 나타나나, 코직산이나 알부틴과 같이 순수 정제된 물질이 아니라 생약식물로부터 추출된 추출물임을 감안하고 또한 그 안전성 및 피부보호효과 등을 고려하면, 이들 종래의 물질에 비하여 피부미백제로서의 효과가 월등한 것임을 알 수 있었다.

미백효능물질	머쉬름 티로시나제
	IC <sub>50</sub>
코직산	0.03%
하이드로퀴논	0.007%
알부틴	0.4%
상백피추출물 (과장품용 추출물)	10%이하
실시예1의 추출물	0.04%이하

## [실시예 3]

방선균(*Streptomyces bikiniensis*)은 멜라닌을 생성하는 미생물인바, 본 실시예는 본 발명의 추출물의 방선균에 의한 멜라닌 생성 억제작용을 측정하기 위하여 행해진 것이다. 본 실시예에서 사용된 방선균 균주(NRRL B-1049)는 KCTC (Korean collection for Type Culture, 기탁번호 9172)로부터 분양을 받은 것이다. 상기 분양받은 방선균을 야채 주스인 V-8(상표명)주스 200ml, 글루코스(glucose) 2g, 이스트추출물(yeast extract) 2g, 탄산칼슘(CaCO<sub>3</sub>) 1g, 우무(agar) 20g, 증류수 800ml로 된 pH7.2의 배지에서 2주간 28℃로 배양시켜 포자를 생성시킨 후 멸균수로 포자 현탁액을 만들었다. 그리고, 0.2%의 이스트추출물(yeast extract)을 첨가한 ISP No. 7 평판배지에 포자 현탁액 0.2ml 씩을 도포한 후 배지표면에 페이퍼 디스크(paper disc)를 올려놓고 시료 양을 30μg/paper disc로 도포하고 28℃에서 배양하였다. 48시간 배양 후 생성된 멜라닌 생성 저해환의 크기를 멜라닌생성 저해물질로 알려진 4-하이드록시아니솔, 코직산, 하이드로퀴논, 알부틴, 상백피추출물 및 파라-메톡시페놀을 대조군으로 하여 멜라닌생성 저해여부를 관찰하였다. 그 결과는 하기 표 2와 같다.

물질	Streptomyces bikiniensis NRRL B-1049
	저해 환지름(mm)
4-하이드록시아니솔	24mm
코직산	0mm
하이드로퀴논	25mm
알부틴	0mm
상백피추출물	12mm
파라-메톡시페놀	30mm
실시예 1의 추출물	28mm

표2에서 보듯이, 실시예 1의 추출물의 경우 28mm의 멜라닌 생성저해환을 나타내었는바, 이는 종래 강력한 멜라닌 생성저해제로 알려진 4-하이드록시아니솔보다 오히려 그 효능이 우수한 것임을 알 수 있었다.

## [실시예 4]

본 실시예는 본 발명의 추출물의 피부미백효과를 세포수준에서 관찰하기 위하여 행해진 것으로, 마우스에서 유래한 세포균주로서 멜라닌 흑색색소를 분비하는 B16-F1 멜라노마세포를 인공배양하면서 본 발명의 추출물 및 다른 생약 추출물을 처리하여 멜라닌 흑색색소가 감소하는 정도를 비교 평가하였다.

본 실시예에서 사용된 B16-F1 멜라노마세포는 ATCC(American Type Culture Collection, 기탁번호: 6323)로부터 분양 받은 것이다. B16 멜라노마 세포의 멜라닌 생합성 저해도 판별을 위하여, B16 멜라노마 세포를  $5 \times 10^3$  cells/ml의 농도로 10% 소태아혈청을 포함하는 현탁액으로 현탁시키고, 현탁세포(5ml)를 조직배양 플라스크에 넣은 후 검정 시료를 0.134% 첨가하여, CO<sub>2</sub> 인큐베이터(5% 이산화탄소-95% 공기조건)에서 37℃로 4일간 배양한 후, 배양액의 색으로 멜라닌생성 정도를 1차 관별하고, 세포를 인산완충액으로 씻은 후 트립신 처리하여 세포를 플라스크로부터 분리하였다.

그리고, 세포를 튜브에 모은 후 인산완충액으로 씻고, 원심분리하여 튜브 아래쪽에 침전된 멜라닌 생성양을 기준의 미백제로 알려지고 있는 상백피추출물 및 호이초추출물과 본 발명의 추출물의 멜라닌색소분비억제정도를 비교하였다. 평가방법은 세포배양 중에 아무것도 처리하지 않은 것과 각 시료를 처리했을 때의 검은 멜라닌색소 분비정도에 따라 색상이 변화되는 정도를 육안 관찰하는 방법을 택하였으며, 재현성을 확인하기 위하여 3차례 반복실험 하였고 색소분비 억제 정도를 5단계로 구분하여 억제가 가장 잘 된 것을 5, 억제 정도가 가장 약한 것을 1로 정하고 육안판단 결과를 수치화 하였다. 그 결과는 하기 표3과 같으며, 이로부터 본 발명의 추출물이 타 생약추출물에 비하여 멜라닌색소분비를 효과적으로 억제한다는 결론을 얻었다.

시료	본 발명의 추출물	상백피추출물	호이초추출물
1차 시험결과	5	1	3
2차 시험결과	5	2	3
3차 시험결과	4	1	2

## [실시예 5]

본 실시예는 본 발명의 추출물을 유효성분으로 포함하는 화장품의 인체 미백효과를 측정하기 위하여 행한 것이다. 본 실시예에서는 본 발명의 추출물을 함유하는 크림을 제조하여 사용하였는데, 그 크림의 조성은 하기 표 4와 같다. 본 실시예를 위하여 20세-35세의 여성 10명을 피험자로 선정하고, 이들 피험자에게 안면좌측 부위에는 비교예의 크림을, 안면우측 부위에는 본 실시예의 크림을 1일 2회 연속 1개월간 도포하도록 하였다.

실험기간인 1개월이 경과한 후 각 피험자의 얼굴 좌우 양편의 도포부위의 얼굴피부색을 영상분석기로 비교하여 가장 어두운색을 5 중간색을 3, 가장 밝은 색을 1로 정하고 그 중간정도에 해당하는 색은 적절한 수치로 평가하였다. 하기 표 5는 본 발명의 추출물을 함유하는 크림과 그렇지 아니한 크림(비교예)을 사용한 피험자의 좌우 안면피부색 비교한 것으로, 본 발명의 추출물이 함유된 크림을 사용한 경우가 비교예의 크림을 사용한 경우보다 현저히 우수한 미백효과가 있었음을 보여준다.

성분		실시예(중량%)	비교예(중량%)
가	스테아릴알콜	8	8
	스테아린산	2	2
	스테아린산콜레스테롤	2	2
	스쿠알란	4	4
	2-옥틸도데실알콜	6	6
	폴리옥시에틸렌(25몰)알콜에스테르	3	3
나	글리세릴모노스테아린산에스테르	2	2
	실시예 1의 추출물	20	-
	프로필렌글리콜	5	5
	정제수	검각하여 총 100중량%가 되게 함	

실험자 번호	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
비교예	2.5	2	1.5	2.5	1.5	2	2	2.5	2	2
실시예 (본 발명의 추출물이 함유된 크림)	3	3	3	3	2.5	3	2.5	3.5	3.5	3

위 실시예 5의 크림이외에도, 본 발명자는 본 발명의 추출물을 다양한 화장품에 함유시켜 그 피부미백효과를 측정하여 보았는바, 본 발명의 추출물이 함유된 화장품 모두가 우수한 미백효과가 있음을 확인할 수 있었다.

참고로, 본 발명자들이 본 발명의 추출물을 함유시켜 제조한 화장용 크림, 화장수, 화장용 유액, 미용수 등의 조성 및 제법은 아래와 같았다.

[처방예 1 : 크림]

(조성)

가) 스테아릴알콜 8.0중량%

스테아린산 2.0



스테아린산올레스테를 2.0

스쿠알란 4.0

2-옥틸도데실알콜 6.0

플리옥시에틸렌(25물부가)알콜에스텔 3.0

글리세릴모노스테아린산에스텔 2.0

나)본 발명의 추출물 10.0

프로필렌글리콜 5.0

정제수나머지

(제법)

상기 나) 상을 가열혼화하여 70℃로 유지시키는 한편, 가)상의 성분들을 혼합하고 가열하여 70℃로 유지시키고, 이러한 상태에서 나)상에 가)상을 서서히 투입하여 예비유화하고, 호모믹서로 균일하게 유화한 다음 서서히 30℃까지 냉각시켜 크립을 제조하였다.

[치방에 2 : 화장수]

(조성)

가) 95% 에탄올 8.0중량%

폴리피로리돈 0.05

올레일알콜 0.1

플리옥시에틸렌모노올레이트 0.2

향료 0.2

파라옥시안식향산메틸에스텔0.1

산화방지제적량

색소적량

나)본 발명의 추출물 0.05

글리세린 5.0

정제수 나머지

(제법)

상기 가)의 성분과 나)의 성분을 각각 혼합용해하고 나)상에 가)상을 교반하면서 첨가하여 화장수를 제조하였다.

[처방예 3 : 유액]

(조성)

가)세틸알콜 1.2중량%

스쿠알란 10.0

바세린 2.0

과라옥시안식향산에틸에스텐 0.2

글리세린모노스테아레이트 1.0

폴리옥시에틸렌 (20몰부가)모노올레이트 1.0

향료 적량

나)본 발명의 혼합추출물 0.5

디프로필렌글리콜 5.0

폴리에틸렌글리콜 1500 2.0

트리에탄올아민 0.2

정제수 나머지

(제법)

상기 나)상을 가열혼화하여 70℃로 유지하는 한편, 가)상의 성분들을 혼합하고 가열하여 70℃로 유지시키고, 이러한 상태에서 나)상에 가)상을 서서히 가하여 예비유화하고, 호모믹서로 균일하게 유화한 다음 서서히 30℃ 까지 냉각시켜 유액을 제조하였다.

[처방예 4 : 미용액]

(조성)

95% 에틸알콜 5.0

폴리옥시에틸렌 솔비탄모노올레이트 1.2g.

해조추출물 0.3g.

하이드록시나트륨 0.2g.

비타민이 아세테이트 0.2g.

감초산나트륨 0.2g,

과라옥시안식향산에틸에스테르 0.1g,

본 발명의 추출물 30g

(재법)

상기 모든 성분을 혼합하여 용해하여 미용액을 제조하였다.

발명의 효과

상술한 바와 같은 본 발명의 추출물은 티로시나아제 활성 억제작용과 멜라닌생성 억제효과가 매우 우수한 것이다. 그리고, 본 발명의 추출물은 어떠한 종류의 화장품에도 적용될 수 있으며, 장기간의 사용을 하더라도 부작용이 없는 것이다. 따라서, 본 발명의 추출물은 종래의 미백화장료에 비하여 그 효과가 월등한 매우 유용한 것이라 하겠다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

중량비로 조각 20 - 55%, 승마 20 - 35%, 백급 10 - 30%, 과루근 10 - 30%를 혼합하는 단계;

전기 단계의 생약식물의 혼합물에 물, 에탄올수용액, 메탄올수용액, 1,3-부틸렌글리콜수용액, 프로필렌글리콜수용액, 글리세린수용액 중 어느 하나 또는 2가지이상을 혼합하여된 용매를 투입하여 생약식물의 주요성분을 용해시키는 단계; 및

전기 단계에서 용해된 생약식물의 혼합물에 대하여, 그 찌꺼기를 제거한 나머지를 여과하고 여과된 추출액으로부터 용매를 증발시켜 추출물을 추출하는 단계를 포함하는 생약식물의 추출물을 유효성분으로 하는 미백화장료 제조방법.

청구항 2.

제1항에 있어서, 상기 조각, 승마, 백급, 과루근은 실온에서 증량의 변화가 없을 때까지 건조된 것인, 생약식물의 추출물을 유효성분으로 하는 미백화장료 제조방법.

청구항 3.

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 조각, 승마, 백급, 과루근은 분말화된 것인, 생약식물의 추출물을 유효성분으로 하는 미백화장료 제조방법.

청구항 4.

제1항에 있어서, 상기 조각, 승마, 백급, 과루근이 동일 중량비로 혼합된 것인, 생약식물의 추출물을 유효성분으로 하는 미백화장료 제조방법.

청구항 5.

제1항에 있어서, 상기 백급과 과루근의 합계가 중량비로 전체의 20 - 50%인 것인, 생약식물의 추출물을 유효성분으로 하는 미백화장료 제조방법.

청구항 6.

제1항에 있어서, 물, 1,3-부틸렌글리콜 또는 프로판렌글리콜을 용매로 사용하는 경우, 50-70℃의 온도로 40-60시간 가열, 증발하여 생약식물의 주요성분을 용해하는, 생약식물의 추출물을 유효성분으로 하는 미백화장료 제조방법.

#### 청구항 7.

제1항에 있어서, 에탄올수용액 또는 메탄올수용액을 용매로 사용하는 경우, 실온에서 10-20일간 방치하여 생약식물의 주요성분을 용해하는, 생약식물의 추출물을 유효성분으로 하는 미백화장료 제조방법.

#### 청구항 8.

제1항에 있어서, 용해된 생약식물을 여과하기 위하여 500메쉬 이하의 여과지를 사용하?d1020010107914?알차 여과 하고 다시 0.40 $\mu$ m 이하의 여과지로 여과하는, 생약식물의 추출물을 유효성분으로 하는 미백화장료 제조방법.

#### 청구항 9.

통상의 화장품 조성에 중량비로 조각 20-55%, 승마 20-35%, 백급 10-30%, 과루근 10-30%가 혼합된 혼합물의 추출물을 함유시킨 것을 특징을 하는 피부미백 화장품.

#### 청구항 10.

제9항에 있어서, 상기 혼합물의 추출물을 피부미백 화장품 전체 조성에 대하여 중량비로 10-20% 함유시킨 크림형태의 피부미백 화장품.

#### 청구항 11.

제9항에 있어서, 상기 혼합물의 추출물을 피부미백 화장품 전체 조성에 대하여 중량비로 0.5-0.1% 함유시킨 크림형태의 피부미백 화장품.

#### 청구항 12.

제9항에 있어서, 상기 혼합물의 추출물을 피부미백 화장품 전체 조성에 대하여 중량비로 0.05-0.1% 함유시킨 액상의 피부미백 화장품.

#### 청구항 13.

중량비로 조각 20-55%, 승마 20-35%, 백급 10-30%, 과루근 10-30%가 혼합된 혼합물의 추출물을 주된 성분으로 하는 피부미백료.



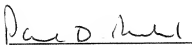
TRANSPERFECT  
TRANSLATIONS

City of New York, State of New York, County of New York

I, Alice Kim, hereby certify that the following document is to the best of my  
knowledge and belief, a true and accurate translation of the Korean patent document  
No. KR 2001-0106527 from Korean into English.

  
\_\_\_\_\_  
Alice Kim  
Signature

Sworn to before me this  
May 30, 2007

  
\_\_\_\_\_  
Signature, Notary Public

PAUL D. RALSION  
Notary Public, State of New York  
No. 01RA6023867  
Qualified in Queens County  
Commission Expires May 3, 2011

\_\_\_\_\_  
Stamp, Notary Public

(19) Korean Intellectual Property Office (KR)  
(12) Unexamined Patent Publication (A)

(51) Int. Cl. 7	(11) Disclosure publication number:	Teuk 2001-0106527
A61K 7/42	(43) Disclosure publication date:	December 7, 2001

(21) Application number:	10-2001-0072279
(22) Application date:	November 20, 2001

(71) Applicant:	Baek-Won Sung 52-49, Noryangjin 1-dong, Dongjak-ku, Seoul
(72) Inventor:	Mi-Kyung Oh 206-603, Byuksan Apt. 832-1, Jookjun-ri, Suji-eup, Yongin-si, Kyungki Province Yon Kyung Lee 21-514, Youngdong Chagwan Apartment, 50, Samsung-dong, Kangnam-ku, Seoul
(74) Agent:	Jong-Yoon Kim Kyung-Suk Yang

Examination application: Yes

---

(54) Method of manufacturing cosmetic ingredients for skin whitening from herbal medicines

---

Abstract

The present invention concerns the method of manufacturing cosmetic ingredients for skin whitening using as its effective ingredients the extracts which are extracted by applying such solvents as water (distilled water), ethanol aqueous solution, methanol aqueous solution, 1,3-butylene glycol aqueous solution, propylene glycol aqueous solution and glycerin aqueous solution to the mixture of *Gleditsiae Spina*, *Cimicifugae Rhizoma*, *Bletillae Rhizoma*, and *Trichosanthes kirilowii Maximowicz* mixed in a specified ratio which are used as herbal medicines, wherein the manufacturing process includes the step in which 20-55% of *Gleditsiae Spina*, 20-35% of *Cimicifugae Rhizoma*, 10-30% of *Bletillae Rhizoma* and 10-30% of *Trichosanthes kirilowii Maximowicz* are mixed in terms of weight percentage; the step in which the mixture of the major ingredients of the herbal medicines specified in the previous step are dissolved by adding to it the solvent that is made by mixing one or two or more solutions of water, ethanol aqueous solution, methanol aqueous solution, 1,3-butylene glycol aqueous solution, propylene glycol aqueous solution and glycerin aqueous solution; and the step in which the extract is extracted by removing dregs from the herbal medicines dissolved by the solvent in the previous step and then filtering the solution and evaporating the solvent from the filtered extract solution.

Keywords

Cosmetic ingredient for skin whitening, extracts of herbal medicines, *Gleditsiae Spina*, *Cimicifugae Rhizoma*, *Bletillae Rhizoma*, *Trichosanthes kirilowii Maximowicz*

Specification

Detailed Explanation of the Invention

## Objective of the Invention

### Technology to Which the Invention Belongs and Prior Art of the Field

The present invention concerns the method of manufacturing the cosmetic ingredients for skin whitening using as its effective ingredients the extracts of herbal medicines, more specifically the method of manufacturing cosmetic ingredient for skin whitening using as its effective ingredients the extracts which are extracted by applying such solvents as water (distilled water), ethanol aqueous solution, methanol aqueous solution, 1,3-butylene glycol aqueous solution, propylene glycol aqueous solution and glycerin aqueous solution to the mixture of *Gleditsiae Spina*, *Cimicifugae Rhizoma*, *Bletillae Rhizoma*, and *Trichosanthes kirilowii* Maximowicz mixed in a specified ratio which are used as herbal medicines.

The skin color of a person is determined by hemoglobin, bilirubin as bile pigment, and melanin as the skin pigment but melanin has the largest impact. Melanin is synthesized in the melanocyte at the bottom of the epidermis among skin cells and the process of melanin synthesis is as follows: dopaquinone is generated as an enzyme called tyrosinase which acts with the stroma called tyrosine in the melanocyte and this dopaquinone turns into melanin through oxidation and enzyme reaction. Because the tyrosinase, an enzyme acting as an important factor in the melanin generation process, becomes more active by ultraviolet light, if we are exposed to excessive sunlight, the generation of melanin increases, and since this is excessively collected within the skin, the skin becomes darker and discoloration and dark spots also take place.

Therefore, for the formulation and manufacturing of the skin whitener used as a topical application, we can use the material that suppresses the activation of tyrosinase or some reaction in the melanin generation process, especially the material that suppresses the activation of the said tyrosinase. The typical examples of this kind of materials include iscolbin acid, hydroquinone, arbutin and kojic acid. However, as the safety of these synthetic chemicals is hard to be ensured, they are not appropriate for use as cosmetics.

Because of this, many research studies have recently been performed on the methods to extract major ingredients from herbal medicines and to use the extracts as the cosmetic ingredients for skin whitening. Numerous cosmetic ingredients for skin whitening introduced include the cosmetic ingredient for skin whitening using *Mori Cortex Radicis* (Japanese Patent Publication SO 55-44375, SO 64-26507, SO 64-83009, and PYUNG I-256587), the cosmetic ingredient for skin whitening using licorice root (Japanese Patent Publication SO 60-214721, SO 63-23809, SO 64-63506, and PYUNG I-149706), the cosmetic ingredient for skin whitening using *Paeoniae Radix* (Japanese Patent Publication SO 61-246109), the cosmetic ingredient for skin whitening using cinnamon bark (Japanese Patent Publication SO 63-30403) and other cosmetic ingredients for skin whitening using such herbal ingredients as *Sophorae Radix*, *Mume Fructus*, *Viticis Fructus*, *Corni Fructus* and *Prunellae Spica*.

However, the cosmetic ingredients for skin whitening by using such conventional herbal ingredients are not excellent in their efficacy as all of them use only the extract of one kind of herbal medicine, are ineffective in skin whitening and some side effects take place as weaknesses (elements causing side effects) as well as strengths of the herbal ingredients used are activated. They also have discoloration or odor problems as they are stored for a long time.

### Technical Task of the Invention

The present invention has been designed to solve such problems of the prior inventions. The purpose of the present invention is to provide cosmetics with enhanced skin whitening effects by mixing several herbal medicine ingredients in a specified ratio and extracting the ingredients of the mixture and using the extracts as the cosmetic ingredients for skin whitening.

Another purpose of the present invention is to provide the cosmetic ingredients for skin whitening by preventing the side effects that can be caused by a single herbal medicine ingredient through the mutually complementary action of the mixed herbal medicines.

### Configuration and Action of the Invention

The method of manufacturing cosmetic ingredients for skin whitening of the present invention is to mix *Gleditsiae Spina*, *Cimicifugae Rhizoma*, *Bletillae Rhizoma*, and *Trichosanthes kirilowii* Maximowicz in a specified ratio and add to the mixture the solvent that is made by mixing one or two or more solutions of water, ethanol aqueous solution, methanol aqueous solution, 1,3-butylene glycol aqueous solution, propylene glycol aqueous solution and glycerin aqueous solution, and heat it up to a certain temperature so that the ingredients of the herbal medicines are dissolved in the solvent; extract the major components of the said herbal medicines by filtering and sterilizing the dissolved solution through filtering paper and use the extract as the major component of the cosmetic ingredient for skin whitening.

Among the herbal medicine plants used in the present invention, *Gleditsia japonica* Miq. or *Gleditsia horrida* Mak. is the dried ripe fruits of "*Gleditsia Australis*." The *Gleditsia Australis* is distributed throughout Korea except for Hamkyungbuk-do and they mainly grow by the streams at the foot and valley of the mountains which have the altitude of 100 m to 900 m. The "*Gleditsia Australis*" has sharp thorns on the trunks and branches and has grooves in a vertical direction as they are old; since there is something like a jam in the endothelium of the mature fruits, it tastes sweet and is called *Gleditsiae Fructus*. "*Gleditsia japonica* Miq" has a hot, salty taste and warm properties; it has the effects of dissolving phlegm, stopping cough and healing palsy by acting upon the lung meridian, large intestine meridian and Sanjiao meridian; and since it has saponins in the skin of the fruits, it is also used as an alternative soap. According to the recent pharmacological tests, the herbal medicine boiled with "*Gleditsia japonica* Miq" is reported to have the effects of dissolving phlegm, suppressing germs and hematology.

*Cimicifugae Rhizoma* is a plant belonging to the Ranunculaceae family. It has originated from *Cimicifuga* [sic: *Cimicifuga*] *heracleifolia* Komar., *C. davurica* Maxim., *C. foetida* L., and *C. simplex* Wormsk and they mainly grow in the mountains in the central and northern parts of Korea. *Cimicifugae Rhizoma* is dried roots of the said plants and it has a bittersweet taste and slightly cold properties. It is often used for cooling down fever from the skin and dissolving pain in the throat. In particular, since it has the function of suppressing germs, it is also used as topical application for treating inflammation.

*Bletilla striata* Reichb. is the dried stalk of "*Bletilla striata*," a plant in the family of Orchidaceae. It has a bittersweet taste and cool properties. It acts upon the lung meridian, strengthens the lung, stops bleeding, subsides swelling, heals tumors and helps the growth of granulation tissues. Since it has the effects of hemostasis and suppressing germs, it is also used for topical application in powder form for treating wounds.

*Trichosanthes kirilowii* Maximowicz is the roots of "*Trichosanthes kirilowii*" which is a vine belonging to the Cucurbitaceae. It is widely distributed in the central and southern part of Korea and grows on the mountains, fields and banks of farming fields. It has a bitter taste and cold properties. It acts upon the lung meridian, stomach meridian, and the large intestine meridian. It is often used to treat diabetes, fever and anxiety, high fever of the stomach and intestines, drain pus, treat malignant tumors, mastitis, treat boils on the back and changjul [phonetic] facial skin disease, facilitate menstruation, and heal other extravasated blood. According to the pharmacological tests, it is reported to have the effects of suppressing such pathogenic germs as dysentery bacillus and treating boil and hemorrhoids.

The said herbal medicine ingredients of *Gleditsiae Spina*, *Cimicifugae Rhizoma*, *Bletillae Rhizoma* and *Trichosanthes kirilowii* Maximowicz may not seem to have any special skin whitening effects when judging from their properties and actions individually but as a result of numerous tests by the inventor, if these herbal medicine ingredients are mixed in a specified ratio and their components are extracted, the said herbal medicine ingredients provide not only skin whitening effects by mutual action of the herbal medicine ingredients but they also provide excellent, remarkable effects and don't cause any side effects in comparison with the conventionally known single herbal medicine plant extract.

In the present invention, the mixing ratio of the above herbal medicine ingredients is 20-55% of *Gleditsiae Spina*, 20-35% of *Cimicifugae Rhizoma*, 10-30% of *Bletillae Rhizoma* and 10-30% of *Trichosanthes kirilowii* Maximowicz in terms of weight percentage. The herbal medicine materials used for this should be completely dried until they show no change in weight in room temperature. In mixing the said herbal medicine ingredients, the mixing ratio may be appropriately adjusted depending on the intended use of the cosmetics by using the extract but generally, it is most safe to keep the same mixing ratio for the above herbal medicine ingredients.



As Gleditsiae Spina has warm properties and facilitates the blood circulation. When it is mixed with other herbal medicine ingredients, it functions to enhance the effects; it can be used up to 55% of the total quantity. However, if it exceeds 55%, the use of other herbal medicine ingredients must be decreased and if it is used below 20%, the synergic effects are decreased.

Cimicifugae Rhizoma is a herbal medicine with the effects of detoxification and pacification, and it plays the role of dissolving the toxicity and side effects that can be caused by other herbal medicines. Its usage rate must be at least 20% of all the ingredients but it doesn't have to exceed 35%.

Bletillae Rhizoma and Trichosanthes kirilowii Maximowicz act upon the lung meridian and have the effects of hemostasis, suppressing germs and aiding the growth of granulation tissues; thus, it plays the role of strengthening the skin protection with a mixture of Gleditsiae Spina and Cimicifugae Rhizoma. Therefore, it is desirable to have Bletillae Rhizoma and Trichosanthes kirilowii Maximowicz in the rate of at least 10% or above for each. However, as both of these herbal medicines have cold properties, they should not exceed 30% individually and it is desirable not to exceed 50% of the total weight in their combined weight.

As the solvent to extract the ingredients of these herbal medicines, water, ethanol aqueous solution, methanol aqueous solution, 1,3-butylene glycol aqueous solution, propylene glycol aqueous solution or glycerin aqueous solution can be used individually or as a mixture of one or two or more of them. The quantity of the solvent added to the said herbal medicine ingredients can vary depending on the kind of solvent. In other words, if water, ethanol aqueous solution, or methanol aqueous solution is used as the solvent, it is desirable to have equal amounts of the herbal medicine mixture and solvent in terms of weight percentage. If 1,3-butylene glycol aqueous solution, propylene glycol aqueous solution or glycerin aqueous solution is used as the solvent, it is desirable to add the solvent three to four times the herbal medicine mixture in terms of weight percentage.

The ingredients of the herbal medicine can be extracted only by adding the solvent to the herbal medicine mixture but in order to sufficiently extract the effective ingredients contained in the herbal medicines in a shorter time period, it is better to warm it up in medium heat under temperature ranging from 50°C to 70°C for 40 to 60 hours.

When the heating is completed, the cooked herbal medicine mixture and solvent are filtered through a filter of 500 mesh or below to remove the dregs; then, when the solvent that is evaporated from the extracted liquid is passed through the filter, the extract amounting to the concentrate of the herbal medicine mixture is obtained. In the present invention, as the herbal medicines are heated in medium heat, the germs in the herbal medicines are not completely killed. Therefore, it is desirable to have a sterilization process during the filtering phase but chemical sterilization methods such as putting it in a sterilizer is not desirable since it can have bad effects on the skin later unless the sterilizer has been completely removed. Consequently, it is desirable to remove the germs in a physical way by using a minute filter (0.40  $\mu$ m or below) that can remove the germs.

When the extract is extracted through this process, the extract can be mixed with various cosmetic materials as a skin whitening ingredient to manufacture the cosmetics.

The present invention is explained below by illustrating the Examples of Embodiment.

#### [Example of Embodiment 1]

In this Example of Embodiment, the major ingredients have been extracted by separately applying the solvent to the mixture of Gleditsiae Spina, Cimicifugae Rhizoma, Bletillae Rhizoma, and Trichosanthes kirilowii Maximowicz, and the mixing rates for the herbal medicines used were the same for Gleditsiae Spina, Cimicifugae Rhizoma, Bletillae Rhizoma, and Trichosanthes kirilowii Maximowicz. The solvents used were water, 30% ethanol aqueous solution, 80% 1,3-butylene glycol aqueous solution and 40% propylene glycol aqueous solution. The herbal medicines used for this have been dried until they show no change in weight in room temperature. Then we crushed them into powder by using an atomizer, weighed the same amount of each herbal medicine powders, mixed them together and divided them into 4 portions.

For one portion of the said mixture divided into four portions, we added water in the same weight as the herbal medicine mixture, warmed it up at medium heat of about 60°C for 48 hours, removed the dregs from the extract, filtered it first through a 500-mesh filter, and then filtered the filtered extract again using 0.40  $\mu\text{m}$  filter to obtain the sterilized extract.

For another portion of the said mixture divided into four portions, we added 30% ethanol aqueous solution in the same weight as the herbal medicine mixture, left it at room temperature for 15 days, removed the dregs from the extract, filtered it first through a 500-mesh filter and then filtered again the filtered extract by using a 0.40  $\mu\text{m}$ -filter to obtain the sterilized extract.

And for another portion of the said mixture divided into four portions, we added 80% 1,3-butylene glycol aqueous solution in the quantity amounting to four times the weight of the herbal medicine mixture, warmed it up at medium heat of about 60°C for 48 hours, removed the dregs from the extract, filtered it first through a 500-mesh filter and then filtered the filtered extract again by using a 0.40  $\mu\text{m}$ -filter to obtain the sterilized extract.

And for the remaining one portion of the said mixture divided into four portions, we added 40% propylene glycol aqueous solution in the quantity amounting to four times the weight of the herbal medicine mixture, warmed it up at medium heat of about 60°C for 48 hours, removed the dregs from the extract, filtered it first through a 500-mesh filter and then filtered the filtered extract again by using a 0.40  $\mu\text{m}$ -filter to obtain the sterilized extract.

We compared the obtained extracts by using different solvents and confirmed that the components were the same and the extracted quantity varied a little depending on the solvent used but we were able to confirm that it would not become particularly problematic. However, when considering the efficiency, it was more convenient to use the 30% ethanol aqueous solution as the solvent.

The extracts obtained from this Example of Embodiment (especially, the extract obtained by using 30% ethanol aqueous solution as the solvent) were used as samples in the following Examples of Embodiment to test the skin whitening effects of the extracts for the present invention.

#### [Example of Embodiment 2]

In this Example of Embodiment, in order to measure the skin whitening effects of the extracts obtained in the Example of Embodiment 1, we decided to confirm whether this extract plays the role of suppressing the activities of tyrosinase, which functions as an important factor in the generation of melanin and specifically, measured the effects of suppressing the activities of tyrosinase by comparing the extract obtained from the Example of Embodiment 1 with such conventional cosmetic ingredients for skin whitening as Mori Cortex Radicis extract, kojic acid, arbutin, hydroquinone and para-methoxy phenol.

The said inhibitory activity against tyrosinase was measured at 490 nm using a microplate by putting the sample of 15  $\mu\text{l}$  on a microplate (96 well), adding 150  $\mu\text{l}$  of 0.1 M phosphoric acid buffer solution (pH 6.86) and 25  $\mu\text{l}$  of 1.5 mM L-tyrosine solution, then adding 7  $\mu\text{l}$  of 2,380 unit/ml mushroom tyrosinase (0.05 M phosphoric acid buffer solution, pH 6.86) and letting it react at 30°C for 10 minutes. The inhibitory rate (%) against tyrosinase was calculated by using the following equation, and the  $\text{IC}_{50}$  value was decided as the concentration of the inhibitory material reaching up to the enzyme action inhibition rate of 50%. The measurement results obtained in this manner are shown in the following Table<sup>2</sup> 1:

(Calculation equation)

$$\text{Inhibition rate (\%)} = \{[(D-C)-(B-A)] / (D-C)\} \times 100$$

(In the above calculation equation, A means the optical density before the reaction in the case of the added inhibitor; B means the optical density after the reaction in the case of the added inhibitor; C means the optical density before the reaction in case without the added inhibitor and D means the optical density after the reaction in case without the added inhibitor.)

We tested the inhibition action against the activities of tyrosinase in this Example of Embodiment and the test results revealed that the  $\text{IC}_{50}$  value (concentration that inhibits 50% of the tyrosinase action) of the extract of the Example of Embodiment 1 was 0.04% or below; this is a much better result than the Mori Cortex Radicis extract which has been known to show excellent skin whitening effects. In comparison with other materials, its inhibitive action has been shown to be weaker than kojic acid and arbutin in terms of the figures but if we consider the fact that this is not a genuine, purified material like kojic acid and arbutin but an extract obtained from herbal medicine plants and also consider its safety and skin protection effects, we can find that this is a cosmetic ingredient for skin whitening that is far better than the conventional materials in terms of effects.

Materials effective in skin whitening	Mushroom tyrosinase
	IC <sub>50</sub>
Kojic acid	0.037%
Hydroquinone	0.007%
Arbutin	0.4%
Mori Cortex Radicis extract (extract for cosmetics)	10% or below
Extract of the Example of Embodiment 1	0.04% or below

## [Example of Embodiment 3]

*Streptomyces bikiniensis* is a microorganism generating melanin and this Example of Embodiment has been performed to measure the action of the extract of the present invention by inhibiting the generation of melanin via *streptomyces bikiniensis*. The *streptomyces bikiniensis* strain (NRRL B-1049) used in this Example of Embodiment was distributed by KCTC (Korean Collection for Type Culture, deposition number: 9172). We cultured the said *streptomyces bikiniensis* in the medium of pH 7.2 composed of 200 ml of V-8 (trademark) vegetable juice, 2 g of glucose, 2 g of yeast extract, 1 g of CaCO<sub>3</sub>, 20 g of agar and 800 ml of distilled water at pH 7.2 at 28°C for two weeks to generate spores and made spore suspension with sterilized water. And we applied 0.2 ml of spore suspension on the ISP No. 7 plate medium, added by 0.2% yeast extract, put a paper disc on the surface of the medium, applied 30 µg/paper disc on the sample quantity, and cultured it at 28°C. We observed the size of the melanin generation clear zone generated after culturing it for 48 hours and whether the melanin generation is inhibited or not in comparison with the control of 4-hydroxyanisole, kojic acid, hydroquinone, arbutin, Mori Cortex Radicis extract and para-methoxy phenol. The findings are summarized in the following Table 2.

Materials	Streptomyces bikiniensis NRRL B-1049
	Clear zone diameter (mm)
4-hydroxyanisole	24 mm
Kojic acid	0 mm
Hydroquinone	25 mm
Arbutin	0 mm
Mori Cortex Radicis extract	12 mm
Para-methoxy phenol	30 mm
Extract of the Example of Embodiment 1	28 mm

As shown in the Table 2, the extract of the Example of Embodiment 1 showed the melanin generation clear zone of 28 mm, which demonstrated better performance than 4-hydroxyanisole that has been known as a powerful melanin generation inhibitor conventionally.

## [Example of Embodiment 4]

This Example of Embodiment has been performed to observe the skin whitening effects of the extract of the present invention at the level of cells. While artificially culturing the B16-F1 melanoma cell that secretes melanin black pigment as a cell strain originated from mice, we processed the extract from the present invention and the extracts from other herbal medicines and compared and evaluated the extent of the decrease of melanin black pigment.

The B16-F1 melanoma cell used in this Example of Embodiment was distributed by ATCC (American Type Culture Collection, deposition number: 6323). In order to determine the melanin biosynthesis inhibition of B16 melanoma cell, we suspended B16 melanoma cell in the suspension including 10% fetal bovine serum in the concentration of  $5 \times 10^3$  cells/ml, put the suspended cells (5  $\mu$ l) into the tissue culture flask, added 0.134% of the assay sample and cultured it in a CO<sub>2</sub> incubator (5% of carbon dioxide and 95% of air) at 37°C for four days. We first determined the degree of melanin generation by the color of the culture medium and washed the cells with phosphoric acid buffer solution and processed them with trypsin and then separated them from the flask.

We gathered the cells in a tube and washed them with phosphoric acid buffer solution, centrifuged them, and compared the quantity of generated melanin deposited at the bottom of the tube and the degree of inhibition of melanin pigment secretion between the Mori Cortex Radicis extract and Saxifragae Herba extract known as the conventional skin whitener and the extract of the present invention. The evaluation method adopted was to observe the degree of color change with the naked eye depending on the degree of black melanin pigment secretion for those without any processing while culturing them and when each sample was processed. In order to confirm the reproducibility, we repeated the test three times and classified the degree of pigment secretion inhibition into five levels to quantify the findings with the naked eye. 5 means the highest inhibition and 1 means the lowest inhibition. The findings are summarized in the following Table 3. Based on this, we reached the conclusion that the extract of the present invention inhibits the melanin pigment secretion more effectively than other herbal medicine extracts.

Samples	Extract of the present invention	Mori Cortex Radicis extract	Saxifragae Herba extract
Results of the 1 <sup>st</sup> test	5	1	3
Results of the 2 <sup>nd</sup> test	5	2	3
Results of the 3 <sup>rd</sup> test	4	1	2

## [Example of Embodiment 5]

This Example of Embodiment has been performed to measure the skin whitening effects of the cosmetics containing the extract of the present invention as the effective ingredient. In this Example of Embodiment, we made and used the cream containing the extract of the present invention and the composition of the cream is as shown in the following Table 4. For this Example of Embodiment, we selected 10 women in the age range of 20 to 35 as test subjects and let the test subjects apply the cream of a Comparison Example on their left cheeks and the cream of the Example of Embodiment on their right cheeks twice a day for one month consecutively.

After the test period of one month had passed, we compared the face skin colors of each test subject on both sides of their cheeks by an image analyzer and evaluated them by assigning 5 to the darkest color, 3 to medium shade, 1 to the brightest color and other appropriate numbers to other colors in between. The following Table 5 shows the comparison of the left and right face skin colors of the test subjects who used both the cream containing the extract of the present invention and the other cream (Comparison Example). It indicates that the case wherein using the cream containing the extract of the present invention demonstrates much better skin whitening effects than the case using the cream of the Comparison Example.

Ingredient		Example of Embodiment (weight %)	Comparison Example (weight %)
A	Stearoyl alcohol	8	8
	Stearin acid	2	2
	Stearin acid cholesterol	2	2
	Squalane	4	4
	2-Octyl dodecyl alcohol	6	6
	Polyoxyethylene (25 mol) alcoholester	3	3
B	Glycerylmonostearin acid ester	2	2
	Extract of the Example of Embodiment 1	20	-
	Propylene glycol	5	5
	Distilled water	Made it to be 100 weight % in total by adding	

Subject number	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Comparison Example	2.5	2	1.5	2.5	1.5	2	2	2.5	2	2
Example of Embodiment (cream containing the extract of the present invention)	3	3	3	3	2.5	3	2.5	3.5	3.5	3

In addition to the cream of the above Example of Embodiment 5, the inventors included the extract of the present invention in various cosmetics and measured their skin whitening effects and confirmed that all of the cosmetics containing the extract of the present invention demonstrated excellent skin whitening effects.

The formulation and composition of the cosmetic cream, cosmetic lotion, cosmetic milky lotion, and beauty water manufactured to contain the extract of the present invention are listed below for reference:

[Formula Example 1: Cream]

(Composition)

A) Stearoyl alcohol 8.0 weight %

Stearin acid 2.0

Stearin acid cholesterol 2.0  
Squalane 4.0  
2-Octyl dodecyl alcohol 6.0  
Polyoxyethylene (25 mol) alcohol ester 3.0  
Glycerylmonostearin acid ester 2.0

B) Extract of the present invention 10.0  
Propylene glycol 5.0  
Distilled water remainder

(Formulation)

While heating and blending the above B section to maintain it at 70°C, we mixed the ingredients in the A section and heated them to maintain it at 70°C and slowly added the ingredients in the A section to the ingredients in the B section to assimilate them preliminarily, assimilated them evenly by a homo mixer and then slowly cooled them down to 30°C to make the cream.

[Formula Example 2: Cosmetic skin lotion]

(Composition)

A) 95% ethanol 8.0 weight %  
Poly-pyrrolidone 0.05  
Oleyl Alcohol 0.1  
Polyoxyethylene monooleate 0.2  
Perfume 0.2  
Paraoxy benzoin acid methyl ester 0.1  
Anti-oxidant appropriate quantity  
Pigment appropriate quantity

B) Extract of the present invention 0.05  
Glycerin 5.0  
Purified water remainder

(Formulation)

We blended and dissolved the ingredients in the above Section A and Section B and made the cosmetic skin lotion by adding the ingredients in the above Section A and Section B while stirring the solution.

[Formula Example 3: Milky lotion]

(Composition)

A) Cetyl alcohol 1.2 weight %

Squalane 10.0

Vaseline 2.0

Paraoxy benzoic acid ethyl ester 0.2

Glycerylmonostearate 1.0

Polyoxyethylene (20 mol) monooleate 1.0

Perfume appropriate quantity

B) Extract of the present invention 0.5

Dipropylene Glycol 5.0

Polyethylene Glycol 1500 2.0

Triethanolamine 0.2

Purified water remainder

(Formulation)

While heating and blending the above B section to maintain it at 70°C, we mixed the ingredients in the A section and heated them to maintain it at 70°C and slowly added the ingredients in the A section to the ingredients in the B section to assimilate them preliminarily, assimilated them evenly by a homo mixer and then slowly cooled them down to 30°C to make the milky lotion.

[Formula Example 4: Beauty water]

(Composition)

95% Ethyl alcohol 5.0

Polyoxyethylene Sorbitanmonooleate 1.2 g

Seaweeds extract 0.3 g

Sodium Hyaluronic Acid 0.2 g

Vitamin E Acetate 0.2 g

Sodium glycyrrhethinic acid 0.2 g  
Paraoxy benzoic acid ethyl ester 0.1 g  
Extract of the present invention 30 g

(Formulation)

We manufactured the beauty water by blending and dissolving all of the above ingredients.

Effects of the invention

As described above, the extract of the present invention have excellent effects in the inhibition of tyrosinase action and melanin generation. And the extract of the present invention can be applied to any kind of cosmetics and doesn't cause any side effects even though it is used for a long time. Therefore, the extract of the present invention is very useful since it provides much better effects in comparison with the conventional cosmetic ingredient for skin whitening.

(57) Scope of Claims

Claim 1.

Method of manufacturing cosmetic ingredient for skin whitening from herbal medicines which includes the step in which 20-55% of *Gleditsiae Spina*, 20-35% of *Cimicifugae Rhizoma*, 10-30% of *Bletillae Rhizoma* and 10-30% of *Trichosanthes kirilowii Maximowicz* are mixed in terms of weight percentage;

The step in which the mixture of the major ingredients of the herbal medicines specified in the previous step are dissolved by adding to it the solvent that is made by mixing one or two or more selected solutions among water, ethanol aqueous solution, methanol aqueous solution, 1,3-butylene glycol aqueous solution, propylene glycol aqueous solution and glycerin aqueous solution; and

The step in which the extract is extracted by removing the dregs from the herbal medicines dissolved by the solvent in the previous step and then filtering the solution and evaporating the solvent from the filtered extract solution.

Claim 2.

Method of manufacturing cosmetic ingredient for skin whitening from herbal medicines of Claim 1, wherein the said *Gleditsiae Spina*, *Cimicifugae Rhizoma*, *Bletillae Rhizoma*, and *Trichosanthes kirilowii Maximowicz* are dried until they do not show any change in weight in room temperature.

Claim 3.

Method of manufacturing cosmetic ingredient for skin whitening from herbal medicines of Claim 1 or Claim 2, wherein the said *Gleditsiae Spina*, *Cimicifugae Rhizoma*, *Bletillae Rhizoma*, and *Trichosanthes kirilowii Maximowicz* are processed into powder.

Claim 4.

Method of manufacturing cosmetic ingredient for skin whitening from herbal medicines of Claim 1, wherein the said *Gleditsiae Spina*, *Cimicifugae Rhizoma*, *Bletillae Rhizoma*, and *Trichosanthes kirilowii Maximowicz* are mixed in the same weight percentage.

Claim 5.

Method of manufacturing cosmetic ingredient for skin whitening from herbal medicines of Claim 1, wherein the combined weight of the said *Bletillae Rhizoma* and *Trichosanthes kirilowii Maximowicz* are 20 to 50% of the total ingredients in terms of weight percentage.

Claim 6.



Method of manufacturing the cosmetic ingredients for skin whitening from herbal medicines of Claim 1, wherein if water, 1,3-butylene glycol aqueous solution or propylene glycol is used as the solvent, the major ingredients of the herbal medicines are warmed up at the medium heat of 50 to 70°C for 40 to 60 hours to be dissolved.

Claim 7.

Method of manufacturing cosmetic ingredients for skin whitening from herbal medicines of Claim 1, wherein if ethanol aqueous solution or methanol aqueous solution is used as the solvent, the major ingredients of the herbal medicines are dissolved by leaving them at room temperature for 10 to 20 days.

Claim 8.

Method of manufacturing cosmetic ingredients for skin whitening from herbal medicines of Claim 1, wherein the dissolved herbal medicines are first filtered using the filter of 500 mesh or below and filtered again by using the filter of 0.40  $\mu\text{m}$  or below [corrupted characters: ?d1020010107914?].

Claim 9.

Skin whitening cosmetics, wherein the typical composition of the cosmetics contains the extract from the mixture composed of 20-55% of *Gleditsiae Spina*, 20-35% of *Cimicifugae Rhizoma*, 10-30% of *Bletillae Rhizoma* and 10-30% of *Trichosanthes kirilowii Maximowicz* in terms of weight percentage.

Claim 10.

Skin whitening cosmetics of Claim 9 in the form of cream, which contains the extract from the said mixture in the rate of 10 to 20% of the total composition of the skin whitening cosmetics in terms of weight percentage.

Claim 11.

Skin whitening cosmetics of Claim 9 in the form of cream, which contains the extract from the said mixture in the rate of 0.5 to 0.1% of the total composition of the skin whitening cosmetics in terms of weight percentage.

Claim 12.

Skin whitening cosmetics of Claim 9 in liquefied state, which contains the extract from the said mixture in the rate of 0.05 to 0.1% of the total composition of the skin whitening cosmetics in terms of weight percentage.

Claim 13.

Cosmetic ingredient for skin whitening, wherein the major component is the extract from the mixture composed of 20-55% of *Gleditsiae Spina*, 20-35% of *Cimicifugae Rhizoma*, 10-30% of *Bletillae Rhizoma* and 10-30% of *Trichosanthes kirilowii Maximowicz* in terms of weight percentage.